

Primær skleroserende kolangitt og miljøfaktorer

Guro Tengesdal



Prosjektoppgave på medisinstudiet

UNIVERSITETET I OSLO

20.08.13

1	INNLEDNING	4
1.1	Epidemiologi.....	4
1.2	Patogenese.....	4
1.3	Klinikk.....	5
1.4	Behandling.....	5
1.5	Immunmedierte tilstander ved primær scleroserende cholangitt.....	6
1.6	Miljøfaktorer ved primær skleroserende kolangitt.....	6
1.7	Hypoteser	8
2	PASIENT OG METODE.....	9
2.1	PSC utvalg	9
2.2	Kontrollutvalg.....	9
2.3	Datainnsamling.....	9
2.4	Statistikk	10
3	RESULTATER	11
3.1	Demografi	11
3.2	Infeksjoner/komorbiditet	11
3.3	Stimulantia	12
3.4	Reproduksjonsfaktorer.....	13
4	DISKUSJON.....	15
5	Litteraturhenvisninger	21

Forord

Denne oppgaven inneholder en beskrivelse av en kasus-kontrollstudie om primær skleroserende kolangitt (PSC) og miljøfaktorer, gjennomført av Norsk senter for primær skleroserende kolangitt ved Rikshospitalet. Ulike aspekter ved PSC innleder oppgaven, før selve studiet blir beskrevet under avsnittene metode, resultat og diskusjon.

1 Innledning

Primær skleroserende kolangitt (PSC) er en kronisk kolestatisk leversykdom karakterisert av inflammasjon og fibrose i intra- og ekstrahepatiske galleganger. Det er en sjelden tilstand med insidens på 0,9 – 1,3 per 100 000 per år og en prevalens på 8,5-13,6 per 100 000 (1, 2). På tross av et klinisk variabelt forløp er PSC i de fleste tilfeller en progressiv tilstand og levertransplantasjon forekommer ofte 10-15 år etter sykdomsdebut (3). Etiologien bak PSC er ukjent, men trolig spiller immunsystemet en viktig rolle.

1.1 Epidemiologi

Prevalensen av PSC i Nord-Europa er ca 10 per 100 000, mens den i Sør-Europa og Asia er 10-100 ganger lavere (3).

PSC kjennetegnes ved ulik grad av komorbiditet, hvor den vanligste ledsagende sykdommen er inflammatorisk tarmsykdom (IBD). I Nord-Europa er forekomsten av IBD blant PSC pasienter på mellom 62 og 83%, mens den er betydelig lavere både i Sør-Europa og i Asia (3). Flertallet av pasientene (80-90%) er diagnostisert med ulcerøs kolitt (UC), mens de resterende har Crohns sykdom (CD) eller en uavklart subtype. I motsetning til forekomsten av IBD blant PSC pasienter er det ingen geografisk forskjell i forekomsten av PSC blant IBD pasienter, med en frekvens på mellom 1,2% - 4,6%.

PSC representerer et stort neoplastisk potensiale, med økt risiko for både cholangiocarcinom, coloncancer og cancer i galleblære og pankreas. Prevalensen av cholangiocarcinom har blitt rapportert fra 4,8 til 36,4% som gir en relative risiko for cholangiocarcinom for PSC pasienter er 150 til 1560 ganger høyere enn blant normalbefolkningen (3). I tillegg har flere studier vist at PSC er en uavhengig risikofaktor for coloncancer hos pasienter med ulcerøs kolitt (4, 5), med 4 ganger økt risiko for coloncancer blant ulcerøs kolitt pasienter med PSC, sammenlignet med ulcerøs kolitt pasienter uten PSC.

1.2 Patogenese

Etiologien og patogenesen bak PSC er i dag ikke kjent. Det er imidlertid ulike hypoteser rundt de sykdomsfremkallende mekanismene, som spekulerer i hvorvidt PSC forandringene skyldes gallesyretoksisitet eller om de kan forklares av bakterieprodukter eller T-lymfocytter fra inflammet tarm. Autoimmunitet spiller trolig også en rolle i patogenesen bak PSC, med en sterk HLA assosiasjon felles for PSC og typiske autoimmune tilstander. I tillegg til funn av autoantistoffer mot både gallegangs- og tykktarmsepitel, hvor pANCA er det vanligste (6).

PSC kan klassifiseres som en kompleks genetisk sykdom, hvor variasjon i flere gener sammen med miljøfaktorer er nødvendig for sykdomsutvikling. Den største studien gjort på arvbarhet i PSC viser at søsken av PSC pasienter har 9 ganger økt risiko for utvikling av PSC sammenlignet med den øvrige befolkningen. Den samme studien viser også at søsken av PSC pasienter har 8 ganger økt risiko for UC uavhengig av PSC, noe som kan antyde delte genetiske risikofaktorer for PSC og UC (7).

1.3 Klinikk

Flertallet av PSC pasientene er unge med en median alder for sykdomsdebut på mellom 30 og 40 år, mens hele spekteret av pasienter strekker seg fra barn under 10 år til eldre på 70-80 år. Symptomene på leversykdom i PSC er uspesifikke og vage og ofte knyttet til komplikasjoner som strikturer, cholangitter, levercirrhose og cholangiocarcinom. Økende bevissthet rundt PSC, og særlig blant IBD pasienter, har imidlertid ført til tidligere diagnose med lavere symptomfrekvens og hele 44% er nå asymptomatiske ved diagnosetidspunkt (8). Hos de resterende viste en studie fra Boberg og kolleger ved Rikshospitalet fra 2002 **at de mest utbredte symptomene viser følgende fordeling:** Ikterus 28%, pruritus 25%, fatigue 23%, magesmerter 22% og feber 8% (9). Kliniske funn ved PSC forklares av en progredierende sykdomsprosessen til cholestase og cirrhose med portal hypertensjon. De vanligste funnene ved diagnosetidspunkt er rapportert å være hepatomegali (26-44%), splenomegali (9-29%), gastroøsofageale varicer (7-10%) og ascites (2-4%) (10, 11).

Det finnes ingen spesifikke symptomer eller kliniske, biokjemiske eller histologiske funn for PSC, noe som innebærer diagnostiske utfordringer. Den endelige diagnosen stilles imidlertid ved cholangiografi, etter eksklusjon av andre årsaker til de typiske funnene, som er multiple strikturer og dilatasjon av intra- og ekstrahepatiske galleganger. Isolerte ekstrahepatiske forandringer er sjelden, mens kun intrahepatiske gallegangsforandringer forekommer hos 20-28%. Biokjemiske prøver vil også være til hjelp i utredningen, og ALP vil hos mange av PSC pasientene være forhøyet, men er ofte fluktuerende og kan av og til også være normal. ASAT/ALAT kan være forhøyet, men ofte mindre enn ALP. S-Bilirubin er økt i ca 40% av PSC tilfellene, og i likhet med ALP er også denne parameteren fluktuerende (3). Immunologisk testing i utredningen av PSC gjøres først og fremst i differensialdiagnostisk øyemed. Antimitokondrielle antistoffer taler vanligvis for primær biliær cirrhose, mens forhøyede nivåer av IgG4 av og til kan innebære at det foreligger IgG4-assosiert skleroserende cholangitt. Innenfor PSC er pANCA det vanligste autoantistoffet og finnes hos 26-94% av pasientene .

IBD har vært rapportert å debutere tidligere hos PSC pasienter enn hos pasienter med kun IBD (12), og ofte stilles PSC diagnosen flere år etter etablert IBD. Men PSC kan også diagnostiseres før IBD, og i enkelte tilfeller også etter levertransplantasjon. Kolitten som rammer PSC pasientene har flere særegne kjennetegn hvor pasientene på tross av relativt mild sykdomsaktivitet med lange remisjonsfaser har økt risiko for adenocarcinom i colon. På bakgrunn av dette spekuleres det i om IBD i PSC representerer en tredje fenotype av IBD, ulik fra UC og CD (13).

1.4 Behandling

Det finnes i dag ingen dokumentert effektiv medisinsk behandling for PSC. Den europeiske organisasjonen for leversykdommer (EASL) anbefaler ikke lenger bruk av ursodeoxycholsyre i behandling av PSC, da dette ikke øker overlevelse. Videre er behandling med immunsupprimerende eller immunmodulerende medikamenter forbeholdt IgG4-assosiert skleroserende cholangitt, samt PSC med innslag av autoimmun hepatitt, og har ikke vist effekt på sykdomsprogresjon i typisk PSC(14).

Dilatasjonsbehandling av dominante strikturer er derimot anbefalt behandling i tidlige stadier av PSC og vil redusere cholestatiske symptomer i tillegg til å øke

overlevelse(15-17). Men avansert PSC er ikke egnet for endoskopisk behandling og her vil levertransplantasjon være det eneste behandlingsalternativet. Det progressive forløpet av PSC innebærer at de fleste pasienter vil utvikle avansert sykdom og trenge levertransplantasjon, gjennomsnittlig 10-15 år etter diagnose (18). I Norge er PSC den hyppigste årsaken til levertransplantasjon, og utgjør ca 25% av alle transplantasjoner. Overlevelse etter transplantasjon for PSC pasienter er meget god, med 1- og 5- års overlevelse på 90 og 85%.

På tross av dette byr levertransplantasjon hos PSC pasienter på særlige utfordringer. Det uforutsigbare sykdomsforløpet gjør perfekt timing av transplantasjon vanskelig, i tillegg krever den økte risikoen for gallegangs- og coloncancer nøye evaluering i forkant av transplantasjon.

Også post-operativt står man ovenfor visse utfordringer. Flere studier viser økt forekomst av akutt reaksjon av transplantat hos PSC pasienter, hvor de med etablert IBD før transplantasjon har særlig økt risiko sammenlignet med de uten IBD (19). Recurrence PSC er en siste utfordring knyttet til PSC og transplantasjon. Prevalensen av rPSC er på 15-30% og median tid til rPSC diagnose fra transplantasjon er mellom 3-5 år. De diagnostiske kriteriene er vage og spesielt fokusert på å ekskludere andre årsaker til biliære forandringer etter transplantasjon. Akutt reaksjon, mannlig kjønn og mismatch mellom donors og mottakers kjønn er antydning å være risikofaktorer for rPSC.

1.5 Immunmedierte tilstander ved primær scleroserende cholangitt

Etiologien bak PSC kan trolig delvis forklares av en autoimmun komponent. I tillegg til at 60-80% av PSC pasientene har ledsagende IBD er det funnet en sterk assosiasjon til andre autoimmune sykdommer. I en studie fra Sverige av 103 PSC pasienter hadde 24% av pasientene minst en autoimmun tilstand utenfor GI-traktus (20), mens en studie fra Nederland av 241 PSC pasienter rapporterte om en frekvens på 19,5% (21). Andre studier har i tillegg til assosiasjonen mellom PSC og autoimmune tilstander, også funnet økt forekomst av autoimmune sykdommer hos PSC pasientenes førstegrad slektninger (22). Noe av formålet med denne studien var å se på forekomsten av ledsagende autoimmune tilstander blant PSC pasientene ved Rikshospitalet, og om funnene tilsvarer det som tidligere er observert i Sverige og Nederland.

1.6 Miljøfaktorer ved primær skleroserende kolangitt

I tillegg til en arvelig komponent er det sannsynlig at ulike miljøfaktorer bidrar i utviklingen av PSC. Hittil er den eneste identifiserte miljøfaktoren med påvirkning på sykdomsrisiko røyk, som er assosiert med redusert risiko (23-25).

Videre er det vist en sterk assosiasjon mellom PSC og UC, og flere studier har vist at også innen UC har røykere lavere risiko for sykdom, sammenlignet med ikke-røykere (26). Pga den sterke sammenhengen mellom UC og PSC har det vært usikkert om den beskyttende effekten av røyk mot PSC er relatert til den inverse assosiasjonen mellom UC og røyking, eller om røyk i seg selv beskytter mot PSC. En kasus kontroll studie hvor røykevaner blant 129 PSC pasienter med IBD og 41 PSC pasienter uten IBD ble sammenlignet med friske kontroller, kunne imidlertid rapportere om en større beskyttelse fra røyk mot PSC enn UC. Hvilket betyr at den inverse assosiasjonen mellom PSC og røyk er uavhengig av og ikke sekundært til den beskyttende effekten av røyk mot UC (25).

I kasus-kontrollstudien som beskrives i denne oppgaven, sammenligner vi røykevaner mellom PSC pasienter og friske kontroller, for å se om vi også her kan finne en invers relasjon mellom røyking og PSC. I tillegg har vi sett på eksponeringen for passiv røyking og bruk av snus, for å se om også dette gir en positiv/beskyttende effekt.

Det har lenge vært forsket på ulike positive og negative helseeffekter rundt alkohol og kaffe. Sterk alkoholavhengighet er bl.a relatert til et stort antall medisinske og sosiale problemer som avhengighetssyndrom og kroniske sykdommer som levercirrhose, kardiomyopati og polyneuropati (27-29). I motsetning til dette er et lett til moderat alkoholforbruk assosiert med en positiv effekt på kardiovaskulære hendelser som koronar hjertesykdom (30) og iskemisk hjerneslag (31).

Når det gjelder kaffe, er det bl.a. vist en gunstig effekt på hjerteinfarkt, endometrie-cancer og Parkinson sykdom (32-35). I tillegg er det nylig rapporter om en positiv effekt av kaffe på både total og årsakspesifikk mortalitet (36). Ingen studier har hittil sett på assosiasjonen mellom stimulantia, som alkohol og kaffe, og PSC. I denne oppgaven ser vi derfor på forskjellen i kaffe-, alkohol- og også teforbruk, mellom PSC pasienter og friske kontroller for å se om dette har noen effekt på sykdomsrisiko for PSC.

PSC er en sykdom som hovedsakelig rammer menn. Dette i motsetning til andre autoimmune sykdommer som multippel sklerose, reumatoid artritt, systemisk lupus erythematosus og primær biliær cirrhose, som rammer kvinner 2,7 ganger oftere enn menn(36). PBC, som ansees å være "tvillingen" til PSC, men som primært rammer de minste gallegangene, har en kvinne-mann ratio fra 9:1 til 20:1, noe som er høyere enn innenfor andre autoimmune sykdommer(37). Det er blitt gjort flere studier innenfor kvinnelig reproduksjon for å finne forklaringer på det kvinnelig dominerende sykdomsbildet i PBC. Hittil er både redusert fertilitet og amenore blitt assosiert med PBC (38, 39), i tillegg til at flere studier har vist at graviditet er en risikofaktor for PBC og tilsvarende at det å aldri ha vært gravid beskytter mot utviklingen av PBC (40-42). Selv om ingen konkret mekanisme er kjent, kan det tenkes at "østrogen" representerer en risikofaktor i patogenesen bak PBC, og slik kan forklare den skjeve kjønnsfordelingen. Motsatt vil da "østrogen" være en beskyttende faktor mot PSC og bidra til et flertall av syke menn. Dette gav utgangspunkt for vår studie av kvinnelige reproduksjonsfaktorer i PSC, og vi har her undersøkt bruken av p-piller og hormonell behandling for barnløshet (HRT), menarke- og menopausealder og antall barn blant PSC pasienter sammenlignet med friske kontroller.

1.7 Hypoteser

Oppsummeringsvis har vi følgende hovedhypoteser i denne oppgaven:

1. Sigaretttrøyking og andre tobakksprodukter beskytter mot PSC utvikling
2. Andre dagligdagse stiumlantia som kaffe, te og alkohol er assosiert med PSC-utvikling
3. PSC-pasientene har en høy forekomst av autoimmune tilleggstilstander
4. Kvinnelige reproduksjonsrelaterte faktorer er av betydning for PSC utvikling

2 PASIENT OG METODE

2.1 PSC utvalg

Alle pasienter med veldefinert PSC ved Rikshospitalet ble inkludert i studien, hvor PSC diagnosen baserte seg på typisk klinikk og funn ved cholangiografi og biokjemi, med samtidig eksklusjon av andre årsaker. Debut av PSC ble definert som første patologiske cholangiografi forenelig med PSC, mens IBD diagnosen ble stilt ut i fra spesifikke funn ved colonoskopi. Blant det totale utvalget av 245 PSC pasienter var det 172 menn og 73 kvinner.

2.2 Kontrollutvalg

Kontrollmaterialet ble selektert fra medlemmer i benmargsgiverregisteret som har sagt ja til å delta i forskning. Fra det totale antallet friske kontroller (n=XXX) ble det selektert et tilfeldig utvalg kjønns- og aldersmatchede individer (n=245, 1:1 i forhold til antall pasienter). Dette ble gjort ved hjelp av FUZZY kommandoen i Python-ekstensjonen til SPSS (IBM® SPSS® Statistics - Essentials for Python 19.0.0.2) der alder ble matchet i 3 omganger med FUZZ (tillatt mismatch per enkeltindivid) på henholdsvis 5, 10 og 30 år, slik at alle pasientene til slutt hadde fått tilegnet ett kontrollindivid. Kjønnsmatch var innstilt på eksakt (FUZZ=0).

2.3 Datainnsamling

Spørreskjemaet ble utarbeidet i samarbeid med forskere innen multippel sklerose (MS) og reumatoid artritt, da et felles spørreskjema skulle brukes til separate arbeid innen PSC og de andre sykdommene. Designet baserte seg på tidligere brukte spørsmål hentet fra en myasthenia gravis undersøkelse ved Ullevål universitetssykehus, GEMS- en undersøkelse fra Karolinska i Stockholm om betydningen av gener og miljø ved MS, HUNT3- helseundersøkelsen i Nord Trøndelag 3 og NOWAC- om kvinner og kreft. I tillegg ble et av spørsmålene designet selv. Det endelige utvalget av aktuelle spørsmål ble gjort ut i fra intern diskusjon. Skjemaet hadde 41 hovedspørsmål, hvorav 22 av disse hadde flere subspørsmål. 5 av spørsmål omhandlet kjønn, alder, høyde, vekt og etnisitet, deretter fulgte 6 spørsmål om ledsagende sykdommer, infeksjonssykdommer, tannhelse og vaksiner. Videre 12 spørsmål angående husdyr, neglelakkbruk, røyk, snus, alkohol, kaffe og te, 7 spørsmål om matvaner/kosttilskudd og solevaner. Deretter 3 om utdanning og arbeidssituasjon, 1 om eksponering av olje og gasser og til slutt 7 spørsmål kun til kvinner om menustrasjon, prevensjonsbruk og graviditeter. I denne oppgaven er kun enkelte deler av spørreskjemaets kategorier omtalt. Spørreskjemaene ble sendt ut våren 2011. Det ble gjort en purring på PSC pasienter som ikke returnerte skjemaet, mens det ble gjort to purringer hos kontrollene. Den endelige svarprosenten ble 74% for PSC gruppen og 85% for kontrollene. Skjemaene ble scannet i TeleForm Scan station og de scannede dataene kontrollert i TeleForm Verifier. Filene ble lagret i SPSS og Exel- format. Deretter fulgte kvalitetskontroll av data i SPSS. Alle variablene ble gjennomgått og ved funn av urimelige verdier ble originalskjemaet hentet fram og dataene sjekket manuelt. Ved feillesning under scanning ble verdiene korrigert, mens andre uforklarlige verdier ble ekskludert. 5 av kontrollene ble ekskludert pga manglende fødselsdato. Blant PSC pasienten ble enkelte komorbide

sykdomsangivelser og debutaldre for sykdom sjekket manuelt i journal og åpenbare feil ble rettet opp. For mest mulig korrekt data til statistisk arbeid ble kjønn og alder samkjørt med opplysninger fra eksterne databaser for både PSC gruppen og kontrollene, mens det i PSC gruppen i tillegg ble hentet inn data på eksakt tidspunkt for PSC diagnose, samt forekomst av IBD og hvilken type.

2.4 Statistikk

Statistiske analyser ble foretatt i SPSS. Kategoriske variabler ble sammenlignet med kji-kvadrat-test. Kontinuerlige variabler ble sammenlignet med nonparametriske metoder (Mann-Whitney U test) hvis de ikke var normalfordelte, ellers med T-test. Korrelasjon ble undersøkt med Pearsons R.

3 RESULTATER

3.1 Demografi

Totalt var det 245 PSC pasienter, med tilsvarende antall matchede kontroller, som deltok i undersøkelsen, hvorav 172 (70,2%) var menn og 73 (29,8%) var kvinner. Pasient og kontrollgruppen var i tillegg til kjønn, matchet i alder, hvor pasientenes gjennomsnittsalder var 47,7, mens kontrollens var 45,8 (Tabell 1). Av PSC pasientene var 96 (39%) transplantert på tidspunktet for undersøkelsen, mens 150 ikke var det. Videre hadde 3 av PSC pasientene cholangiocarcinom, 5 cholangiocarcinom in situ, mens 1 av pasienten hadde hepatocellulært carcinom. Blant PSC pasientene var hele utvalget (99%) fra Norden, med unntak av en pasient fra Sveits og en fra Australia. Blant det endelige kontrollutvalget var 97, 5 % fra Norden, mens de resterende tilsvarte et individ fra Nederland, et fra Luxemburg, 2 fra England, et fra USA og et fra New Zealand.

Tabell 1: Demografiske data for PSC pasientene og kontrollene.

	Frisk kontroll	PSC
Menn	172 (70,2%)	172 (70,2%)
Kvinner	73 (29,8%)	73 (29,8%)
Alder	47,7	45,8
Høyde	178,1	177,6
Vekt	85,4	78,0
Høyde v/ 18 år	177,8	177,4
Vekt v 18/år	72,3	70,3

3.2 Infeksjoner/komorbiditet

181 (76,4%) av PSC pasientene rapporterte om samtidig forekomst av IBD, hvorav 149 hadde ulcerøs kolitt, 22 Crohns sykdom og 9 indeterminate kolitt, mens det på en av pasientene manglet data om type IBD. Blant kontrollene var det 3 stykker (1,2%) som hadde IBD (tabell 2). Det ble rapportert om minst en autoimmun tilstand utenom IBD hos 25,9% av pasientene og 10,7% av kontrollene (tabell 2), blant disse var cøliaki (5,1%), hypotyreose (4,3%) og diabetes mellitus type 1 (4,3%) de vanligste. Andelen appendektomerte var ikke signifikant forskjellig hos pasientene og kontrollene, 15,4% vs 12,6%, det samme gjaldt tonsillektomerte, hvor 24,2% av pasientene var tonsillektomert, mens forekomsten hos kontrollene var på 22,8% (tabell 2). Den selvoppgitte forekomsten av mononukleose var lik blant pasienten og kontrollene, med 16,3% hos pasientene vs 14,1% hos kontrollene (tabell 2).

Tabell 2: Forekomst av autoimmune sykdommer, mononukleose, appendektomi og tonsillektomi blant PSC pasienter og kontroller.

	PSC	Friske kontroller	p-verdi
Autoimmune sykdommer	63 (25,9)	26 (10,7%)	
IBD	181 (76,4%)	3 (1,2%)	
Mononukleose JA	37 (16,3%)	33 (14,1%)	0,511
NEI	190 (83,7%)	201 (85,9%)	
Appendektomi JA	35 (15,4%)	30 (12,6%)	0,392
NEI	193 (84,6%)	208 (87,4%)	
Tonsillektomi JA	58 (24,2%)	55 (22,8%)	0,728
NEI	182 (75,8%)	186 (77,2%)	

3.3 Stimulantia

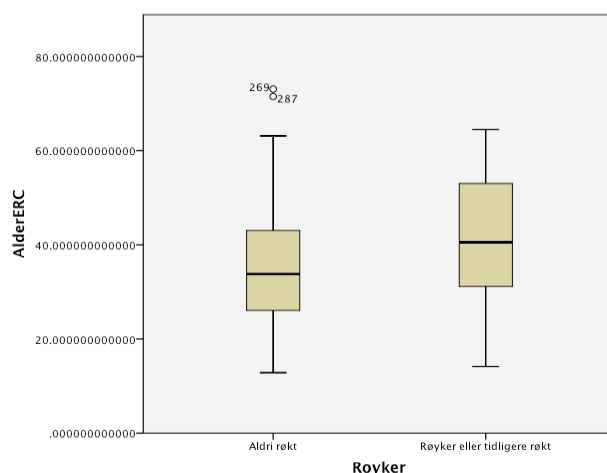
PSC pasientene rapporterte om lavere forekomst av daglig røyking (nåværende eller tidligere), 22,5% hos pasientene vs 45,3% hos kontrollene ($p=1,1 \times 10^{-7}$) (tabell 3). Innad i PSC populasjonen var diagnose alder avhengig av røykestatus før diagnose, hvor røyking var assosiert med høyere alder ved diagnose, 35 vs 40,5 år ($p=0,008$) (figur 1). Det var også trender mot mindre eksposisjon for passiv røyk blant pasientene, 64,0% vs 72,0% ($p=0,062$), den samme gjelder for daglig bruk av snus, 12,4% vs 21,2% ($p=0,011$) (tabell 3). PCS pasienten rapporterte mindre daglig kaffedrikking enn de friske kontrollene både nå (gjennomsnittlig 2,7 vs 4,0 kopper, $p=3 \times 10^{-8}$) og ved 18 års alder (gjennomsnittlig 0,99 vs 1,61 $p=0,001$) (tabell 4). Også andelen pasienter som drakk kaffe var lavere enn blant kontrollene både nå (76,3% vs 85,7%, $p=0,008$) og ved 18 års alder (37,1% vs 49,4%, $p=0,006$) (tabell 3). Det var ingen forskjell i andelen som drakk te i de to gruppene, verken ved 18 års alder eller nå. Når det gjelder daglig tedrikking har imidlertid pasientene rapportert om et høyere forbruk enn kontrollene nå, (gjennomsnittlig 0,95 vs 0,80, $p=0,034$ (MWU)) mens det ikke er noen forskjell ved 18 års alder (tabell 4). Alkoholforbruk både nå og ved 18 års alder viser en forskjell mellom pasientene og kontrollene, hvor andel som drikker alkohol er høyere blant kontrollene, 62,3% vs 90,5% $p=2,2 \times 10^{-13}$ nå, og 68,6% vs 77,8%, $p=0,022$, ved 18 års alder (tabell 3).

Tabell 3: Forekomst av stimulantia blant PSC pasientene og kontrollene.

	Frisk kontroll	PSC	p-verdi
Røyk			
Ja	111 (45,3%)	55 (22,5%)	$1,1 \times 10^{-7}$
Nei	134 (54,7%)	189 (77,5%)	
Passiv røyking			
Ja	172 (72,0%)	153 (64,0%)	0,062
Nei	67 (28,0%)	86 (36,0%)	
Snus			
Aldri	190 (78,8%)	211 (87,6%)	0,011
Noe	51 (21,2%)	30 (12,4%)	
Alkohol			
Aldri	23 (9,5%)	92 (37,7%)	$2,2 \times 10^{-13}$
Noe	220 (90,5%)	152 (62,3%)	
Alkohol v18			
Aldri	54 (22,2%)	76 (31,4%)	0,022
Noe	189 (77,8%)	166 (68,6%)	
Kaffe			
Ingen	35 (14,3%)	58 (23,7%)	0,008
>0 kopper	210 (85,7%)	187 (76,3%)	
Kaffe v18			
Ingen	124 (50,6%)	154 (62,9%)	0,006
>0 kopper	121 (49,4%)	91 (37,1%)	
Te			
Ingen	115 (46,9%)	101 (41,2%)	0,203
>0 kopper	130 (53,1%)	144 (58,8%)	
Te v18			
Ingen	148 (60,4%)	148 (60,4%)	1,00
>0 kopper	97 (39,6%)	97 (39,6%)	

Kaffe	4,00 (3,63-4,37)	2,69 (2,37-3,00)	3×10^{-8}
Kaffe v/18 år	1,61(1,31-1,92)	0,99 (0,75-1,23)	0,001
Te	0,80 (0,61-1,0)	0,95 (0,78-1,12)	0,034 (MWU)
Te v/ 18 år	0,56(0,40-0,73)	0,41 (0,30-0,53)	0,849

Tabell 4: Mengde kaffe- og te drukket blant PSC pasienter og kontroller.



Figur 1: Diagnosealder hos røykere og ikke-røykere

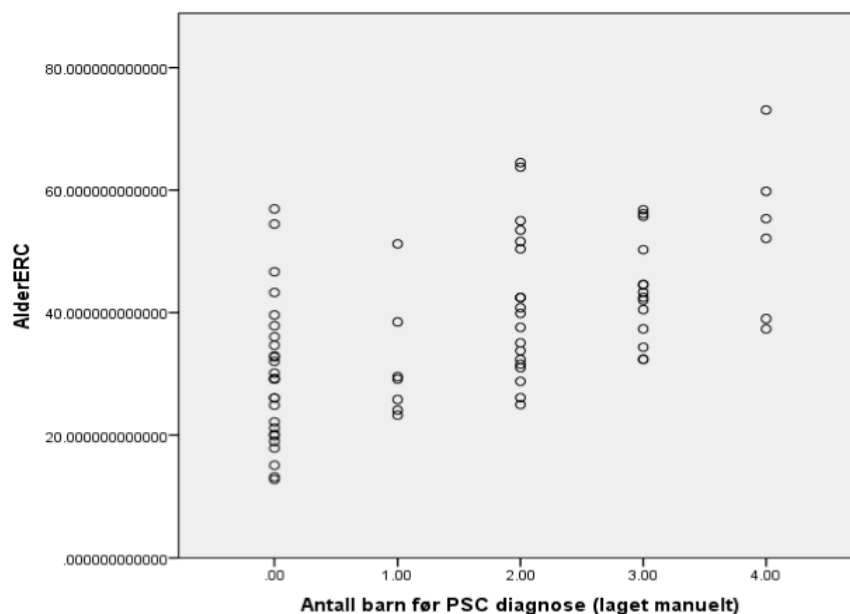
Figuren viser alder ved PSC diagnose hos aldri røykere og hos nåværende/tidligere røykere med boxplot med median, interkvartil range og range av diagnosealder. Tidligere diagnosealder ses hos aldri røykere både ved median og interkvartil range.

3.4 Reproduksjonsfaktorer

Blant kvinner var alder for menarke (13 år) lik mellom PSC pasienter og friske kontroller, mens andel i menopause var større blant PSC pasientene (53,4% vs 33,8%) $p=0,018$) (tabell 5). I tillegg var alderen for menopause lavere blant PSC pasientene (47,7) enn hos kontrollene (51,3) $p=0,004$ (tabell 5). Færre PSC pasienter rapporterte å ha brukt både p-piller (47,6% vs 84,7% $p=2,9 \times 10^{-6}$) og HRT (1,4% vs 11,1% $p=0,016$) (tabell 5). Antall barn (1,8 vs 1,5 barn) var lik mellom de to gruppene (tabell 5), mens det var en markert korrelasjon mellom antall barn og alder ved PSC-diagnose, jo flere barn kvinnene får, jo senere debuterer sykdommen ($r=0,63$, $p<0,0001$) (figur 2).

Tabell 5: Reproduksjonsdata for PSC pasienter og kontroller

		PSC	Kontroll	95% CI	p-verdi
Menarkealder		13,32 (12,94-13,96)	13,10 (12,80-13,39)		0,362
Menopause	JA	39 (53,4%)	24 (33,8%)	1,15-4-40	0,018
	NEI	34 (46,6%)	47 (66,2%)		
Alder menopause		47,74 (45,58-49,91)	51,33 (50,29-52,38)	1,219-5,960	0,004
p-piller	JA	35 (47,9%)	61 (84,7%)		2,9 x 10 ⁻⁶
	NEI	38 (52,1%)	11 (15,3%)		
HRT	JA	1 (1,4%)	8 (11,1%)		0,016
	NEI	71 (98,6%)	64 (88,9%)		
Gravid	JA	58 (79,5%)	58 (80,6%)	0,41-2,11	0,868
	NEI	15 (20,5%)	14 (19,4%)		
Antall barn		1,83 (1,54-2,13)	1,56 (1,28- 1,83)		0,747



Figur 2: Korrelasjon mellom antall barn og alder ved PSC diagnose.

Figuren viser alder ved diagnose på y-aksen, fordelt etter antall barn før PSC diagnosen. Vi ser en tydelig korrelasjon mellom antall barnefødsler og diagnosetidspunkt, hvor hvert barn utsetter alder for sykdomsdebut

4 DISKUSJON

I denne studien har vi gjort noen observasjoner som peker på mulige risikofaktorer for utviklingen av PSC. Hovedfunnene våre er at vi har bekreftet den beskyttende effekten av røyk mot PSC som er dokumentert i tidligere studier, og forekomsten av andre autoimmune sykdommer er omtrent lik. I tillegg har vi funnet at både kaffeforbruket og antall kaffedrikkere er lavere blant PSC pasientene sammenlignet med kontrollene. Blant kvinner fant vi et lavere p-pilleforbruk blant pasientene, i tillegg til en sammenheng mellom paritet og diagnosetidspunkt.

Ingen studier har hittil sett spesifikt på assosiasjonen mellom PSC og kaffe. I denne studien var det rapportert om lavere daglig kaffeforbruk blant PSC pasientene sammenlignet med de friske kontrollene både nå og ved 18 års alder. I tillegg var andelen pasienter som drakk kaffe i det hele tatt lavere enn blant kontrollene både nå og ved 18 års alder. Begge disse funnene kan indikere at kaffe kan ha en beskyttende effekt på PSC. Flere studier har vist at kaffedrikkere har redusert risiko for unormale leverfunksjonsparametre, cirrhose og hepatocellulært carcinom, med en klar dose-respons effekt. To populasjonsbaserte studier fra USA viser at et forbruk på over 2 kaffekopper pr dag er assosiert med redusert risiko for unormale transaminaser (ALAT) og kronisk leversykdom, sammenlignet med de som ikke drikker kaffe (43, 44). Det er også rapportert om at kaffe reduserer risikoen for avansert leversykdom og potensielle komplikasjoner, med lavere forekomst av dekompensert cirrhose og død blant kaffedrikkere (45, 46).

Videre er det funnet en invers relasjon mellom kaffedrikking og hepatocellulært carcinom, i tillegg til en beskyttende effekt av kaffe mot videre utvikling til hepatocellulært carcinom hos pasienter med cirrhose (47-50). Alle de ovenfor nevnte funnene indikerer at kaffe har en positiv effekt på leversykdommer generelt. Funnene fra vår studie kan indikere at kaffe også har en positiv effekt spesifikt mot PSC, men her finnes det enkelte begrensninger som må tas med i betraktning.

Dersom den reduserte andelen- og mengden kaffe blant PSC pasienten skal indikere en beskyttende effekt av kaffe, forutsetter dette at kun kaffe drukket før etablert diagnose er tellende, og dermed er kun våre funn fra 18 års alder relevante. Selv om flertallet av pasientene trolig har fått diagnosen etter 18 års alder, finnes det enkelte unntak som ikke er ekskludert, og som kan være kilde til feilaktige resultater. I tillegg kan det tenkes at pasientene har endret sine drikkevaner med sykdomsutviklingen.

181 av 246 pasienter har ledsagende IBD, hvor kaffe forverrer symptombildet i IBD (51) og kan bidra til at pasientene drikker mindre kaffe og slik gi en økt beskyttende effekt av kaffe mot PSC. Antall spørsmål angående kaffe og hvordan disse var formulert i spørreskjemaet må også vurderes. Det var kun to spørsmål om kaffeforbruk ved henholdsvis 18 års alder og nå, begge hentet og forenklet fra HUNT3. Det kan tenkes at et alternativt kostholdsintervju med en grundigere gjennomgang av kaffeforbruk, f.eks ved flere tidspunkt ville gitt mer og annen informasjon.

Det ble funnet et nåværende lavere gjennomsnittlig kaffeforbruk i tillegg til en nåværende lavere andel kaffedrikkere blant pasientene sammenlignet med kontrollene. Kaffe er i flere studier vist å redusere sykdomsprogresjon ved ulike levertilstander. I en kohortstudie av 766 pasienter av ND Freedman fra 2009 fant man ved hjelp av leverbiopsi at den relative risikoen for sykdomsprogresjon ved inntak av tre kopper kaffe eller mer pr døgn var 0,56 (52). Hvorvidt kaffe beskytter mot videre sykdomsutvikling i PSC kan en ikke uttale seg om ut i fra funnet i

denne studien, men alt i alt kan det se ut til at kaffe har en beskyttende effekt mot PSC.

Det andre hovedfunnet vårt var at PSC pasientene røyker mindre enn kontrollene. 22,5% av pasientene rapporterte om daglig røyking (nåværende eller tidligere), mens andelen blant kontrollene var 45,3%. Dette ligner tall fra tidligere studier som har kunnet bekrefte det samme. Loftus et al. sin kasus-kontroll studie fra 1996 fant at 30,4% av pasientene noen gang (nåværende eller tidligere) hadde røkt, sammenlignet med 53,3% av kontrollene (OR 0,35) (23). Mens Van Erpecum et al. sin kasus-kontroll studie fra samme år rapporterte om at 41% av pasientene og 56% av kontrollene hadde røkt (24). Begge disse studiene hadde imidlertid en mindre pasientpopulasjon enn vår studie (n=184 hos Loftus og n=59 hos van Erpecum). I tillegg var begge kontrollutvalgene hentet fra sykehusregistre, noe som kan ha bidratt til å øke andelen røykere blant kontrollgruppen og slik overdrive den reduserte risikoen for PSC blant røykere. Kontrollutvalget som i denne studien er hentet fra benmargsgiverregisteret vil trolig reflektere røykevaner blant den generelle befolkningen mer nøyaktig enn et sykehusbasert kontrollutvalg. Men det kan også tenkes at kontrollene fra benmargsgiverregisteret representerer en lavere andel røykere enn ellers i befolkningen, og at den beskyttende effekten av røyk mot PSC er større enn det vi har fått vist her.

Selv om røyk trolig beskytter mot utviklingen av PSC er det flere faktorer som kan påvirke resultatet i denne studien. Røyk har en beskyttende effekt mot UC, mens det representerer en risikofaktor for CD. I vår pasientpopulasjon hadde 149 av pasientene UC og 22 CD, og det er ikke justert for den motsatte effekten av røyk på disse to sykdomsrisikoene. I tillegg til IBD kan sosioøkonomisk status ha innflytelse på resultatet, da røyking i høyeste grad forekommer hos personer med handverkeryrker, lavt utdanningsnivå og lav inntekt (53). Den reduserte risikoen for PSC blant røykere kan dermed skyldes sammenhengen mellom røyk og lav sosioøkonomisk status og ikke at røyk i seg selv beskytter mot PSC. Det kan også tenkes at ulike sosioøkonomisk status blant pasientene og kontrollgruppen "maskerer" ulike røykevaner mellom de to gruppene. Ved å justere for sosioøkonomisk status i den statistiske analysen unngår man påvirkning fra denne confounderen og vil slik få en mer korrekt risiko for røyk og PSC. Slike data fantes i spørreskjemaet, men har ikke vært en del av datagrunnlaget benyttet i denne studien. I tillegg til assosiasjonen mellom røyk og sosioøkonomisk status er det vist at røykere og tidligere røykere drikker mer kaffe og alkohol enn ikke røykere (54). I vår studie fant vi et lavere forbruk av både røyk, kaffe og alkohol hos pasientene sammenlignet med kontrollene. For å utelukke at den lave forekomsten av røyk blant pasienten forklares av denne sammenhengen må det også justeres for kaffe- og alkohol, for å få fram røykens reelle effekt på PSC.

Færre PSC pasienter rapporterte om p-pillebruk (47,6% vs 84,7%) sammenlignet med kontrollgruppen. Det er ikke gjort studier som har sett på assosiasjonen mellom p-pillebruk og PSC tidligere. Når det gjelder primær biliær cirrhose er det imidlertid gjort flere studier på dette området, med ulike resultater. En intervjubasert kasus kontroll studie fra 2005 av 1032 PBC pasienter fra USA, fant at PBC pasientene hadde et høyere forbruk av p-piller sammenlignet med kontrollene, men forskjellen var ikke statistisk signifikant (40). En annen kasus kontrollstudie av 222 PBC pasienter fra Saint Antonie Hospital i Frankrike fant at p-pilleforbruket blant PBC pasientene var lavere enn hos kontrollene, 56% vs 66% (55). Det er vanskelig å

fastslå hvordan disse funnene skal tolkes, men trolig spiller østrogen en rolle i patogenesen bak PBC og kan forklare noe av den kvinnelige dominansen i pasientpopulasjonen. Funnene i denne studien med lavere forbruk av p-piller hos PSC pasientene kan indikere at østrogen bidrar som en beskyttende faktor i utviklingen av PCS og slik forklarer hvorfor det her hovedsakelig finnes syke menn. Det er imidlertid begrensninger ved dette funnet og flere faktorer som må medregnes og vurderes. Dersom p-pilleeksponeringen skal påvirke risikoen for sykdom, må all bruk tilskrives tiden før sykdomsdebut. Vi vet i denne studien ikke når kvinnene har brukt p-piller, og for et korrekt resultat all bruk etter etablert diagnose ekskluderes. I tillegg er det ikke differensiert i undergrupper av p-piller med ulikt innhold av etinyløstradiol og levonorgestrel, da ulikt hormoninnhold kan tenkes å påvirke sykdomsrisikoen i ulik grad. Det påpekes spesifikt i spørreskjema at minipiller ikke skal medregnes, og man må derfor gå ut i fra at alle gestagenpillebrukere er ekskludert.

Flere studier har vist en økt risiko for IBD blant p-pillebrukere. I en metaanalyse fra 2008 med 14 studier med oppfylte inklusjonskriterier, publisert mellom 1983 og 2005, ble det funnet en RR for CD på 1,46, og for UC på 1,28 (56). Den tenkte motsatte effekten av p-piller på IBD og PSC må derfor medregnes, og justering for IBD ved stratifisert og multivariant analyse er nødvendig for et mer korrekt resultat. Det er i tillegg vist at røykere bruker mer p-piller enn ikke røykere, og omvendt at p-pillebrukere med større sannsynlighet er røykere (57, 58). En manglende justering for røyk vil dermed også være en begrensning for resultatet. Andre faktorer som kan påvirke resultatet må det og justeres for, bl.a p-piller forskrevet på indikasjon for annen sykdom, som endometriose. Man ikke kan utelukke at endometriosen i seg selv vil påvirke sykdomsrisikoen. Det er altså flere betraktninger og justeringer som må tas høyde for før man kan konkludere med hvilken rolle p-piller har for sykdomsrisiko i PSC.

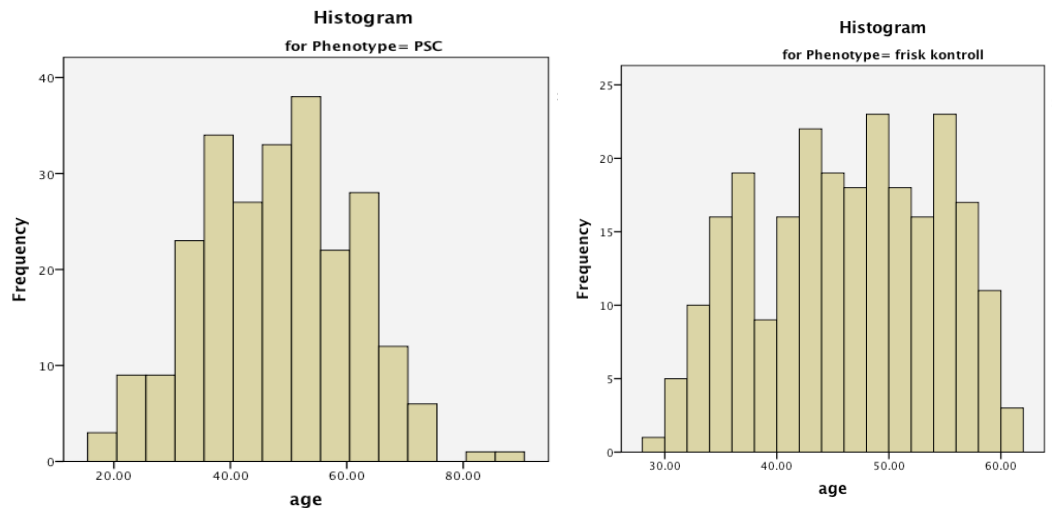
Det ble funnet likt antall barn mellom PSC pasientene og kontrollene (1,8 vs 1,5 barn), hvor alle barn født etter sykdomsdiagnose ble ekskludert fra analysen. Tilsvarende funn ble gjort i en studie fra Wellge et al. fra Tyskland, hvor 229 pasienter og 569 kontroller ble evaluert (59). Vi gjorde også interessante funn innad i PSC populasjonen med en markert korrelasjon mellom antall barn og alder ved PSC-diagnose, jo flere barn kvinnene fikk, jo senere debuterte sykdommen ($r=0,63$, $p<0,0001$). Tolkningen av dette byr på utfordringer. Ut i fra funnet om likt antall barn hos pasientene og kontrollene, er trolig graviditet i seg selv ikke beskyttende mot PSC. Tatt i betraktning at jo flere barn en kvinne med PSC får, jo senere debuterer diagnosen, kan graviditet være en utsettende faktor på sykdomsdebut hos allerede disponerte kvinner. Men det kan heller ikke utelukkes at funnet kan forklares med at tidlig sykdomsdebut gir færre barn pga sykdom i seg selv, mens eldre kvinner som blir syke har rukket å få flere barn. Funnet må tolkes med forsiktighet, men også dette kan påpeke at østrogen medvirker i patofysiologien bak PSC. Satt i sammenheng med primær biliær cirrhose er det i flere studier funnet at graviditet er en risikofaktor for PBC og det å aldri ha vært gravid er en beskyttende faktor (40-42). Noe som også støtter hypotesen om at østrogen er en del av patogenesen bak PBC.

I tillegg til dette fant vi i vår studie at 25,9% av PSC pasientene hadde minst en ledsagede autoimmun sykdom, etter eksklusjon av IBD. Dette ligner tall fra tidligere studier, hvor forekomsten var henholdsvis 24% (20) og 19,5% (21). Vi fant imidlertid

en høyere andel med cøliaki (5,1%) enn det som er rapportert om i tidligere studier fra Sverige og Nederland (1,7%, 0,8%). Andelen med hypotyreose (4,3%) og diabetes mellitus type 1 (4,3%), ligner tallene fra den nederlandske studien (4,2%, 3,7%), men er noe lavere enn det som ble funnet i Sverige (8,4%, 10%). Det må tas med i betraktning at tallene fra vår studie er selvrappportert fra PSC pasientene og ikke kontrollert ut i fra journal, det er dermed noe usikkert om tallene representerer de medisinsk korrekte dataene. Overrepresentasjonen av ledsagende autoimmune tilstander felles for IBD og PSC (60, 61), har gjort at det lenge har vært uklart om assosiasjonen mellom autoimmunitet og PSC er relatert til PSC i seg selv eller om det er knyttet til IBD. Studier fra Sverige hvor 103 PSC pasienter med IBD ble matchet med 103 pasienter med kun IBD, uten PSC, viste at 24% av PSC pasientene hadde minst en autoimmun tilstand utenfor GI-traktus sammenlignet med 9% i IBD gruppen (20). Dette viser at assosiasjonen mellom PSC og andre autoimmune tilstander er uavhengig av IBD, og styrker hypotesen om en autoimmun komponent i etiologien bak PSC.

Det finnes flere punkter å ta stilling til når det gjelder designet i denne studien. For det første må man vurdere om de to studiepopulasjonene er klart definerte uten misssklassifisering. Når det gjelder PSC populasjonene er den basert på alle pasienter med veldefinert PSC ved Rikshospitalet, hvor PSC diagnostiseres ut fra typiske kliniske, biokjemiske og cholangiografiske funn med samtidig eksklusjon av andre årsaker. Det er derfor usannsynlig at det er stor grad av feilklassifisering i pasientgruppen. Når det gjelder kontrollutvalget, som er hentet fra benmargsgiverregisteret, er det lite trolig at dette inneholder udiagnostiserte PSC pasienter. Til tross for at sykdomsutviklingen ofte innebærer en viss latensperiode, er diagnosen så sjelden at vi også her kan utelukke feilklassifisering av subkliniske tilfeller.

Videre har pasientene fått tilegnet ett kontrollindivud med eksakt kjønnsmatch, mens mismatch på alder ble tillatt per enkeltindivud. På gruppenivå fremkommer det en større spredning i alder blant pasientene, med flere under 30 år, i tillegg til 2 outliere opp mot 80 år (figur 3). Men resultatene i studien kan trolig ikke relateres til et noe ulikt aldersspenn mellom de to gruppene, da det forventes liten aldersvariasjon innenfor de aktuelle variablene.



Figur 3: Aldersfordelingen blant PSC pasientene og kontrollene, hvor figuren viser større spredning i alder blant PSC pasientene.

De to gruppene er ikke matchet med hensyn på geografisk tilhørighet eller sosioøkonomisk status. En kan derfor ikke utelukke at ulikheter i røyke- og snusvaner, alkoholforbruk og kaffe- og teforbruk delvis kan tilskrives ulikheter i geografisk tilhørighet og sosioøkonomisk status mellom de to gruppene.

Et tredje moment som representerer en mulig svakhet ved studien er det begrensede antall pasienter og kontroller som er inkludert. Studien tar for seg en sjelden sykdom, noe som gjenspeiles i antall caser inkludert, 245 i den generelle delen, og 72 i delen som omfatter kvinner. Hvorvidt funnene i en gruppe på 72 PSC-kvinner kan overføres til den generelle populasjonen av kvinner med PSC er usikkert, og et kontrollmateriale på 3-4 kontroller for hver case ville økt testresultatene verdi. Men til tross for dette er vår studie den størst innen PSC og miljøfaktorer så langt.

Ikke responderere vil redusere presisjonen av en studie og medføre bias dersom disse har vært utsatt for en annen eksponering enn de som responderer. I denne studien ble den endelige svarprosenten på 74% blant PSC pasientene (av ca 350) mens den ble på 85% hos kontrollen (av 1100). Manglende deltakelse er vist å være høyest bl.a. hos røykere og det kan derfor ikke utelukkes at den lave andelen røykere og kaffedrikkere blant PSC pasientene delvis kan forklares av dette og slik gi en "falskt" lav p-verdi.

I tillegg er recall bias noe man alltid må ta stilling til i enhver retrospektiv kasus kontroll studie. Kasusene søker ofte forklaringer på sin sykdom og legger dermed mer betydning i tidligere hendelser og eksponeringer. Spørreskjemaet undersøkte for 34 ulike eksponeringer, hvor kun røyk er kjent fra tidligere som beskyttende mot PSC, mens ingen sikre risikofaktorer er påvist per i dag. Den ukjente etiologien bak PSC gjør det derfor lite sannsynlig at pasientene har "favorisert" enkelte av eksponeringene som forklaring på sin sykdom. I tillegg er flere av variablene en del av den daglige rutinene til mange, som f.eks kaffe, te, og p-piller, noe som gjør det mindre sannsynlig at de knyttet til tanker om sykdomsfremkallende effekt. Det er altså flere argumenter som taler for at det ikke foreligger recall bias. En enkel metode for å sikkert redusere sannsynligheten for denne typen feil er å spørre respondenten direkte i hva han tenker forårsaket hans sykdom, og justere ut i fra dette.

Reversert kausalitet er derimot et større problem ved denne studien, da pasientene har rapportert lavere andeler i flertallet av eksponeringene. Dette gjelder både røyk, snus, andel og mengde kaffedrikkere, alkohol og p-pille- og HRT behandling. Man kan ikke utelukke at tidlige symptomer på IBD eller PSC har resultert i et mindre forbruk av røyk, snus, alkohol og kaffe og tilsvarende ført til et mindre behov for p-piller, samt HRT behandling. Men man kan heller ikke se bort i fra at et lavere forbruk blant pasientene har ført til sykdom, og at nettopp disse eksponeringene har en beskyttende effekt mot PSC.

Som konklusjon på denne studien støttes de tidligere funnene om en positiv effekt av røyk på PSC, i tillegg kan den negative assosiasjonen mellom kaffeforbruk og PSC representere en beskyttende effekt. Dessuten kan det tyde på at hormonelle faktorer kan ha innflytelse på kjønnsfordelingen i PSC, da p-piler er negativt assosiert med PSC, i tillegg til at antall fødte barn ser ut til å påvirke tidspunkt for sykdomsdebut.

5 Litteraturhenvisninger

1. Bambha K, Kim WR, Talwalkar J, Torgerson H, Benson JT, Therneau TM, et al. Incidence, clinical spectrum, and outcomes of primary sclerosing cholangitis in a United States community. *Gastroenterology*. 2003;125(5):1364-9. Epub 2003/11/05.
2. Boberg KM, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N, Stiris M, Bell H. Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a Norwegian population. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33(1):99-103. Epub 1998/03/07.
3. Karlsen TH, Boberg KM, Schrumpf E. Primary Sclerosing Cholangitis. In: TD B, MP M, Aj S, editors. *Zakim and Boyer's Hepatology*; Elsevier Saunders; 2011. p. 754-81.
4. Soetikno RM, Lin OS, Heidenreich PA, Young HS, Blackstone MO. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc*. 2002;56(1):48-54. Epub 2002/06/27.
5. Broome U, Lindberg G, Lofberg R. Primary sclerosing cholangitis in ulcerative colitis--a risk factor for the development of dysplasia and DNA aneuploidy? *Gastroenterology*. 1992;102(6):1877-80. Epub 1992/06/01.
6. Hov JR, Boberg KM, Karlsen TH. Autoantibodies in primary sclerosing cholangitis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2008;14(24):3781-91. Epub 2008/07/09.
7. Bergquist A, Montgomery SM, Bahmanyar S, Olsson R, Danielsson A, Lindgren S, et al. Increased risk of primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis in first-degree relatives of patients with primary sclerosing cholangitis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2008;6(8):939-43. Epub 2008/08/05.
8. Porayko MK, Wiesner RH, LaRusso NF, Ludwig J, MacCarty RL, Steiner BL, et al. Patients with asymptomatic primary sclerosing cholangitis frequently have progressive disease. *Gastroenterology*. 1990;98(6):1594-602. Epub 1990/06/01.
9. Boberg KM, Bergquist A, Mitchell S, Pares A, Rosina F, Broome U, et al. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: risk factors and clinical presentation. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37(10):1205-11. Epub 2002/11/01.
10. Boberg KM, Rocca G, Egeland T, Bergquist A, Broome U, Caballeria L, et al. Time-dependent Cox regression model is superior in prediction of prognosis in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 2002;35(3):652-7. Epub 2002/03/01.
11. Tischendorf JJ, Hecker H, Kruger M, Manns MP, Meier PN. Characterization, outcome, and prognosis in 273 patients with primary sclerosing cholangitis: A single center study. *Am J Gastroenterol*. 2007;102(1):107-14. Epub 2006/10/14.
12. Joo M, Abreu-e-Lima P, Farraye F, Smith T, Swaroop P, Gardner L, et al. Pathologic features of ulcerative colitis in patients with primary sclerosing cholangitis: a case-control study. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(6):854-62. Epub 2009/03/20.
13. Loftus EV, Jr., Harewood GC, Loftus CG, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, et al. PSC-IBD: a unique form of inflammatory bowel disease associated with primary sclerosing cholangitis. *Gut*. 2005;54(1):91-6. Epub 2004/12/14.
14. Cullen SN, Chapman RW. The medical management of primary sclerosing cholangitis. *Semin Liver Dis*. 2006;26(1):52-61. Epub 2006/02/24.
15. Stiehl A, Rudolph G, Kloters-Plachky P, Sauer P, Walker S. Development of dominant bile duct stenoses in patients with primary sclerosing cholangitis treated with ursodeoxycholic acid: outcome after endoscopic treatment. *J Hepatol*. 2002;36(2):151-6. Epub 2002/02/07.
16. Baluyut AR, Sherman S, Lehman GA, Hoen H, Chalasani N. Impact of endoscopic therapy on the survival of patients with primary sclerosing cholangitis. *Gastrointest Endosc*. 2001;53(3):308-12. Epub 2001/03/07.
17. Gluck M, Cantone NR, Brandabur JJ, Patterson DJ, Bredfeldt JE, Kozarek RA. A twenty-year experience with endoscopic therapy for symptomatic primary sclerosing cholangitis. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42(9):1032-9. Epub 2008/06/27.

18. Broome U, Olsson R, Loof L, Bodemar G, Hultcrantz R, Danielsson A, et al. Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut*. 1996;38(4):610-5. Epub 1996/04/01.
19. Graziadei IW, Wiesner RH, Marotta PJ, Porayko MK, Hay JE, Charlton MR, et al. Long-term results of patients undergoing liver transplantation for primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 1999;30(5):1121-7. Epub 1999/10/26.
20. Saarinen S, Olerup O, Broome U. Increased frequency of autoimmune diseases in patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(11):3195-9. Epub 2000/11/30.
21. Lamberts LE, Janse M, Haagsma EB, van den Berg AP, Weersma RK. Immune-mediated diseases in primary sclerosing cholangitis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2011;43(10):802-6. Epub 2011/06/28.
22. Bergquist A, Lindberg G, Saarinen S, Broome U. Increased prevalence of primary sclerosing cholangitis among first-degree relatives. *J Hepatol*. 2005;42(2):252-6. Epub 2005/01/25.
23. Loftus EV, Jr., Sandborn WJ, Tremaine WJ, Mahoney DW, Zinsmeister AR, Offord KP, et al. Primary sclerosing cholangitis is associated with nonsmoking: a case-control study. *Gastroenterology*. 1996;110(5):1496-502. Epub 1996/05/01.
24. van Erpecum KJ, Smits SJ, van de Meeberg PC, Linn FH, Wolfhagen FH, vanBerge-Henegouwen GP, et al. Risk of primary sclerosing cholangitis is associated with nonsmoking behavior. *Gastroenterology*. 1996;110(5):1503-6. Epub 1996/05/01.
25. Mitchell SA, Thyssen M, Orchard TR, Jewell DP, Fleming KA, Chapman RW. Cigarette smoking, appendectomy, and tonsillectomy as risk factors for the development of primary sclerosing cholangitis: a case control study. *Gut*. 2002;51(4):567-73. Epub 2002/09/18.
26. Logan RF, Edmond M, Somerville KW, Langman MJ. Smoking and ulcerative colitis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984;288(6419):751-3. Epub 1984/03/10.
27. Estruch R, Nicolas JM, Villegas E, Junque A, Urbano-Marquez A. Relationship between ethanol-related diseases and nutritional status in chronically alcoholic men. *Alcohol Alcohol*. 1993;28(5):543-50. Epub 1993/09/01.
28. Brien SE, Ronksley PE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Effect of alcohol consumption on biological markers associated with risk of coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of interventional studies. *BMJ*. 2011;342:d636. Epub 2011/02/24.
29. Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2011;342:d671. Epub 2011/02/24.
30. Rimm EB, Giovannucci EL, Willett WC, Colditz GA, Ascherio A, Rosner B, et al. Prospective study of alcohol consumption and risk of coronary disease in men. *Lancet*. 1991;338(8765):464-8. Epub 1991/08/24.
31. Mukamal KJ, Jensen MK, Gronbaek M, Stampfer MJ, Manson JE, Pischon T, et al. Drinking frequency, mediating biomarkers, and risk of myocardial infarction in women and men. *Circulation*. 2005;112(10):1406-13. Epub 2005/09/01.
32. Mukamal KJ, Hallqvist J, Hammar N, Ljung R, Gemes K, Ahlbom A, et al. Coffee consumption and mortality after acute myocardial infarction: the Stockholm Heart Epidemiology Program. *Am Heart J*. 2009;157(3):495-501. Epub 2009/03/03.
33. Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Coffee drinking and risk of endometrial cancer--a population-based cohort study. *Int J Cancer*. 2009;125(10):2413-7. Epub 2009/07/09.
34. Saaksjarvi K, Knekt P, Rissanen H, Laaksonen MA, Reunanen A, Mannisto S. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's disease. *Eur J Clin Nutr*. 2008;62(7):908-15. Epub 2007/05/25.
35. Tan EK, Chua E, Fook-Chong SM, Teo YY, Yuen Y, Tan L, et al. Association between caffeine intake and risk of Parkinson's disease among fast and slow metabolizers. *Pharmacogenetics and genomics*. 2007;17(11):1001-5. Epub 2007/12/14.

36. Freedman ND, Park Y, Abnet CC, Hollenbeck AR, Sinha R. Association of Coffee Drinking with Total and Cause-Specific Mortality. *N Engl J Med*. 2012;366(20):1891-904.
37. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005;353(12):1261-73. Epub 2005/09/24.
38. Ahrens EH, Jr., Payne MA, Kunkel HG, Eisenmenger WJ, Blondheim SH. Primary biliary cirrhosis. *Medicine (Baltimore)*. 1950;29(4):299-364. Epub 1950/12/01.
39. Sherlock S, Scheuer PJ. The presentation and diagnosis of 100 patients with primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 1973;289(13):674-8. Epub 1973/09/27.
40. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology*. 2005;42(5):1194-202. Epub 2005/10/27.
41. Kouroumalis E. Environmental agents involved in the cause of primary biliary cirrhosis. *Dis Markers*. 2010;29(6):329-36. Epub 2011/02/08.
42. Parikh-Patel A, Gold E, Utts J, Gershwin ME. The association between gravidity and primary biliary cirrhosis. *Ann Epidemiol*. 2002;12(4):264-72. Epub 2002/05/04.
43. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and tea consumption are associated with a lower incidence of chronic liver disease in the United States. *Gastroenterology*. 2005;129(6):1928-36. Epub 2005/12/14.
44. Ruhl CE, Everhart JE. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology*. 2005;128(1):24-32. Epub 2005/01/06.
45. Corrao G, Zambon A, Bagnardi V, D'Amicis A, Klatsky A. Coffee, caffeine, and the risk of liver cirrhosis. *Ann Epidemiol*. 2001;11(7):458-65. Epub 2001/09/15.
46. Tverdal A, Skurtveit S. Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. *Ann Epidemiol*. 2003;13(6):419-23. Epub 2003/07/24.
47. Gelatti U, Covolo L, Franceschini M, Pirali F, Tagger A, Ribero ML, et al. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case-control study. *J Hepatol*. 2005;42(4):528-34. Epub 2005/05/04.
48. Inoue M, Yoshimi I, Sobue T, Tsugane S. Influence of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study in Japan. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(4):293-300. Epub 2005/02/17.
49. Shimazu T, Tsubono Y, Kuriyama S, Ohmori K, Koizumi Y, Nishino Y, et al. Coffee consumption and the risk of primary liver cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Int J Cancer*. 2005;116(1):150-4. Epub 2005/03/10.
50. Gallus S, Bertuzzi M, Tavani A, Bosetti C, Negri E, La Vecchia C, et al. Does coffee protect against hepatocellular carcinoma? *Br J Cancer*. 2002;87(9):956-9. Epub 2002/11/16.
51. Magee EA, Edmond LM, Tasker SM, Kong SC, Curno R, Cummings JH. Associations between diet and disease activity in ulcerative colitis patients using a novel method of data analysis. *Nutrition journal*. 2005;4:7. Epub 2005/02/12.
52. Freedman ND, Everhart JE, Lindsay KL, Ghany MG, Curto TM, Shiffman ML, et al. Coffee intake is associated with lower rates of liver disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009;50(5):1360-9. Epub 2009/08/14.
53. Barbeau EM, Krieger N, Soobader MJ. Working class matters: socioeconomic disadvantage, race/ethnicity, gender, and smoking in NHIS 2000. *Am J Public Health*. 2004;94(2):269-78. Epub 2004/02/05.
54. Carmody TP, Brischetto CS, Matarazzo JD, O'Donnell RP, Connor WE. Co-occurrent use of cigarettes, alcohol, and coffee in healthy, community-living men and women. *Health Psychol*. 1985;4(4):323-35. Epub 1985/01/01.
55. Corpechot C, Chretien Y, Chazouilleres O, Poupon R. Demographic, lifestyle, medical and familial factors associated with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2010;53(1):162-9. Epub 2010/05/18.
56. Cornish JA, Tan E, Simillis C, Clark SK, Teare J, Tekkis PP. The risk of oral contraceptives in the etiology of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(9):2394-400. Epub 2008/08/08.

- 57.** Wakefield AJ, Sawyerr AM, Hudson M, Dhillon AP, Pounder RE. Smoking, the oral contraceptive pill, and Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* 1991;36(8):1147-50. Epub 1991/08/01.
- 58.** Logan RF, Kay CR. Oral contraception, smoking and inflammatory bowel disease--findings in the Royal College of General Practitioners Oral Contraception Study. *Int J Epidemiol.* 1989;18(1):105-7. Epub 1989/03/01.
- 59.** Wellge BE, Sterneck M, Teufel A, Rust C, Franke A, Schreiber S, et al. Pregnancy in primary sclerosing cholangitis. *Gut.* 2011;60(8):1117-21. Epub 2011/02/23.
- 60.** Waldram R, Kopelman H, Tsantoulas D, Williams R. Chronic pancreatitis, sclerosing cholangitis, and sicca complex in two siblings. *Lancet.* 1975;1(7906):550-2. Epub 1975/03/08.
- 61.** Snook JA, de Silva HJ, Jewell DP. The association of autoimmune disorders with inflammatory bowel disease. *Q J Med.* 1989;72(269):835-40. Epub 1989/09/01.